ՀԱՅԿԱԿԱՆ ՍՍՀ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԿԱԴԵՄԻԱ. ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ ՀԱՆԴԵՍ
АКАДЕМИЯ НАУК АРМЯНСКОЙ ССР БИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ АРМЕНИИ

т. XXIV, № 2, 1971

УДК 547.962.2.547.963.5

Г. А. ПАНОСЯН

ПРИРОДА БАКТЕРИАЛЬНОГО РЕПРЕССОРА И ВОЗМОЖНОЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РОДСТВО ГИСТОНОВ И РЕПРЕССОРОВ

Одним из центральных вопросов современной биологии является вопрос о природе регулирования генетической активности клетки. Суть процессов дифференцировки, морфогенеза и тонкой регуляции активности генов в осуществлении реализации генетической информации заключается в том, каким образом происходит смена активности генов в генетическом аппарате клетки и что ей способствует, как осуществляется репрессия и дерепрессия генов.

За последнее десятилетие накопилось огромное число данных, указывающих на то, что гистоны—основные белки хроматина клетки—могут играть роль репрессоров генетической активности [3, 4, 8, 11]. Однако регуляторная роль их предполагает наличие специфического взаимодействия индивидуальных гистонов со строго специфическими участками молекулы ДНК. Имеющийся в литературе фактический материал однозначно не указывает на наличие подобного взаимодействия [1, 2, 5, 10, 12]. Отсутствие четких данных относительно специфичности гистонов привело к появлению ряда гипотез, пытающихся объяснить регуляцию на уровне транскрипции специфическим взаимодействием с ДНК не гистонов, а других компонентов хроматина: негистонового белка [1, 10, 20, 27] и особой фракции РНК [2, 10, 12].

Батлер, говоря о возможности участия белков негистоновой природы в процессах регуляции, заключает: «Следует вспомнить, что регуляторные белки бактерий не являются гистонами и что хромосомы, безусловно, содержат белки и не основного характера. Вполне вероятно, что такие белки также участвуют в регуляции активности генов» [1].

Само собой разумеется, что прямым доказательством регуляторной роли гистонов является выделение регуляторов в чистом виде и определение их природы и установление идентичности регулятора (репрессора) и гистона. В этом отношении одноклеточные организмы являются идеальным объектом исследования, поскольку именно у них точно установлено наличие регуляторной системы и, исходя из этого, выдвинута теория регуляции синтеза белка, известная как схема Жакоба и Моно [22, 26].

Ясно, что если бактериальные регуляторы (репрессоры) и гистоны имеют сходное строение или свойства, то таким образом может быть кос-

венно, но точно доказано, что гистоны также являются регуляторами. В противном случае, т. е. если между бактериальными регуляторами и гистонами нет ничего общего ни в строении, ни в биологической активности, необходимо предположить, что либо гистоны не имеют отношения к регуляции по схеме Жакоба и Моно, а, возможно, играют роль в процессе дифференциации клеток, либо они вообще не имеют отношения к процессам регуляции, а являются лишь строительным материалом для хромосом. Отсюда понятно, какое важное значение имеет установление природы бактериального репрессора.

Сходство бактериального репрессора с гистонами уже с самого начала было поставлено под сомнение тем фактом, что во многих случаях (в частности, в тех, где было точно доказано наличие репрессоров) в бактериях не могли обнаружить белки, сходные по своим свойствам с гистонами [36]. И, наконец, как это будет видно из нижеследующего, в самое последнее время были выделены бактериальные репрессоры и доказано, что они сильно отличаются от гистонов как по молекулярному весу, так и по своему заряду. Тем не менее, в настоящей работе мы проводим некоторую аналогию между бактериальными репрессорами и гистонами и на этом основании выдвигаем гипотезу о генетическом родстве их. Данная, пока мало обоснованная, но, с нашей точки зрения, увлекательная гипотеза оправдана тем, что она, с одной стороны, может объяснить возможную связь гистонов и негистонового белка хроматина в осуществлении регуляции генетической активности, а с другой—поднимает совершенно новый вопрос об эволюции репрессоров.

Природа бактериального репрессора

Еще до самого последнего времени о бактериальном репрессоре было известно очень мало. Только на основании ряда косвенных данных предполагалось, что репрессор имеет белковую природу [14]. Об этом стало известно благодаря работам трех групп исследователей: Гильберта и Мюллер-Хилла [18, 19, 25], Риггса и Бурже [15, 31—34] и Пташне и других [28—30]. Первые две группы исследователей занимались выяснением природы репрессора лактозного оперона E. coli, а Пташне и сотрудники—репрессора λ фага. Остановимся на этих исследованиях несколько подробнее.

а) Репрессор лак-оперона E. coli. Гильберт и Мюллер-Хилл [18, 19] для определения связывания радиоактивного индуктора β-галактозидазы—изопропилтиогалактозида (ИПТГ) с репрессором i-гена использовали метод равновесного диализа. Однако для этого необходимо было увеличить концентрацию репрессора в клетке в 100 раз. Поэтому они использовали мутант E. coli (i^t -мутант), в котором i-ген образовывал продукт, связывающийся с ИПТГ более прочно, чем обычный репрессор. Кроме того, поскольку регуляторный i-ген работает с очень низкой скоростью (несколько тысячных процента от общего количества белка клетки), Мюллер-Хилл и др. [35] для увеличения количества репрессора в клетке

использовали два приема. Один заключался в получении мутантов, в которых индуцируется больше репрессора, а другой—в увеличении числа генов, синтезирующих репрессор. Последнее достигалось введением в клетку фаговой хромосомы, несущей i-ген. При комбинировании этих двух методов [25] удалось получить такие клетки, в которых выход репрессора составлял 0,5% от общего количества растворимого белка бактериальной клетки.

Для того чтобы показать действительно ли материал, связывающий ИПТГ, является продуктом i-гена, Гильберт и Мюллер-Хилл [18] использовали амберный супрессорный мутант i^-, который синтезировал лишь фрагмент β-галактозидазы, и i^s-мутант, синтезирующий генопродукт, не отвечающий индукцией фермента на введение индуктора. И в том и в другом случае не обнаруживалось связывания ИПТГ с белками мутанта.

Гильберт и Мюллер-Хилл [18] показали, что полученный ими частично очищенный репрессор не теряет способности связываться с ИПТГ после действия РНК-азой или ДНК-азой, но полностью становится неактивным в этом отношении при обработке его проназой. Повышение температуры до 50°С и выше приводило к потере репрессором способности связываться с индуктором. Сравнительный анализ репрессора, связанного с индуктором, показал, что он осаждается с коэффициентом седиментации 7—8 S, что соответствует молекулярному весу 150—200 000. Авторы полагают, что в клетке имеется 10 копий репрессора, т. е. на каждые 10^4 молекул белков в клетке приходится одна молекула репрессора.

Ими было также показано [19], что лактозный репрессор специфически связывается лишь с той молекулой ДНК, которая имеет лактозный оперон, и присоединяется к его операторному участку. Ими же было обнаружено, что индуктор освобождает репрессор от ДНК.

Зюбей и др. [35] также выделили репрессор лак-оперона, используя метод Гильберта и Мюллер-Хилла, провели дальнейшую очистку препарата и получили фракцию, которая содержала 0,47% репрессора. В своих исследованиях они использовали штамм E. coli rSF′, обладающий двумя i-генами: один ген бактериальной хромосомы, а другой—эписомный. Эти авторы при очистке репрессора использовали этап пропускания препарата через колонку с ДЭАЭ-целлюлозой. При этом было показано, что при pH 7,0 репрессор адсорбируется на ДЭАЭ-целлюлозе, что свидетельствует о его кислой природе.

Дальнейшие исследования репрессора лак-оперона провели Риггс и Бурже [31, 32]. Они выделили репрессор вначале по Гильберту и Мюллер-Хиллу, а затем провели дальнейшую очистку его при помощи гелевой фильтрации и пропускания через колонку с фосфоцеллюлозой. Введение этапа адсорбции на фосфоцеллюлозе оказалось очень важным, поскольку в этом случае удавалось получить два пика радиоактивных по индуктору (А- и В-пики), один из которых, а именно В-пик, имел очень малый выход белка, но связывал большое количество радиоактивного индуктора. В пике В (элюция 0,3 М KCl) специфическая C^{14}-ИПТГ связывающая

активность увеличивается в 300 раз, или в 10^4 раза по сравнению с исходным экстрактом.

Выделенный этими авторами из пика В репрессор при электрофорезе на полиакриламидном геле при pH 9,0 в трис-глициновом буфере обнаруживал одну главную полосу и несколько очень малых полос. Главная электрофоретическая полоса содержала около 70% общего белка, выделенного препаратом репрессора. Ультрафиолетовый спектр наиболее очищенных препаратов репрессора—максимум при 278 нм, а отношение 280/260—1,3.

Риггс и Бурже [31] провели также иммунологические исследования репрессора лак-оперона. При внутримышечном инъецировании небольших количеств белка пика В, эмульгированного в адъюванте Фрейнда, им удалось получить у кроликов антисыворотку к репрессору. Оказалось, что репрессор сохраняет свою активность связывания с ИПТГ даже после осаждения антисывороткой. Реакция взаимодействия репрессор-антитело оказалась очень чувствительной и имела линейную зависимость от концентрации репрессора в интервале от 1 мкг до 10 мкг. Эта реакция была использована для выяснения вопроса, действительно ли белок, связывающий индуктор, является лак-репрессором. С этой целью из различных мутантов по i-гену были получены экстракты, которые испытывались на способность связываться с ИПТГ и антисывороткой. Было показано, что оба названных свойства отсутствуют или сильно уменьшаются у разных мутантов по i-гену.

Используя метод миллипоровых фильтров, Риггс и Бурже [31] нашли, что белки пика В, связывающие C^{14}-ИПТГ, осаждаются в глицериновом градиенте с той же скоростью, что и бычий γ-глобулин. Кроме того, эти два белка имели сходный профиль выхода при хроматографировании на сефадексе G-200. Отсюда эти авторы пришли к выводу о том, что репрессор представляет собой белок, имеющий молекулярный вес, равный 150 000.

Исследуя полученный ими пик А при хроматографировании на фосфоцеллюлозе, Риггс и Бурже [31] показали, что в этом пике материал, связывающий C^{14}-ИПТГ, осаждается с коэффициентов седиментации 3,0—3,5 S вместо 7 S, характерного для пика В. Кроме того, материал пика А осаждается антисывороткой, полученной при иммунизации белками пика В. Отсюда они пришли к важному выводу о том, что репрессор представляет собой белок, состоящий из нескольких субъединиц (с молекулярным весом 40 000), каждая из которых способна связываться с индуктором.

Метод мембранных фильтров Риггс и Бурже [32] был использован также для определения связываемости лак-репрессора с ДНК. Ими было показано, что 10^{-3}М ИПТГ снимал эффект связывания ДНК с репрессором, тогда как неиндуцирующие галактозиды [16] не обладали этим свойством. Использование ДНК, не имеющей лак-области (дикий тип фага λФ 80), не приводило к связыванию репрессора, а при использовании ДНК, выделенной из мутантов фага λФ 80 dlaco^c, несущих изменен-

ный операторный участок лак-оперона, резко уменьшалось связывание репрессора, что обусловило необходимость использования более высоких концентраций репрессора.

Лак-репрессор имеет, по крайней мере, два свойства: связываться с индуктором и с ДНК. Способность связываться с индуктором очень стабильна. При стоянии одного из препаратов, полученных Риггс и др. [34], на льду в течение 5 месяцев в буфере, способность его связываться с индуктором уменьшалась только на 50%. В то время как в тех же условиях способность связываться с ДНК уменьшалась более чем в 100 раз. Выдержанный на льду препарат репрессора вместо одного пика в 7 S содержал два: малый—в 7 S и большой—в 4 S. Хотя и 7 S и 4 S препарата репрессора хорошо связываются с индуктором, они вовсе не связываются с ДНК. Отсюда делается вывод о том, что при стоянии репрессор теряет свою активность как вследствие изменения конфигурации молекулы (что, вероятно, происходит и при взаимодействии с индуктором), так и в результате расщепления на субъединицы.

Исходя из величины константы диссоциации (10^{-13} M) и энергии связывания (18 ккал/моль), Бурже и Риггс [15] заключают, что для специфичности и стабильности репрессор-операторного взаимодействия достаточно 10—20 пар оснований. Из генетических исследований известно [24], что область, где находится оператор, гораздо меньше, чем величина среднего гена. Поскольку для взаимодействия репрессора с оператором необходима двойная спираль и репрессор состоит из 4 субъединиц, Бурже и Риггс [15] считают, что в операторе должны быть повторяющиеся последовательности пар оснований.

Бурже и Риггс [15] удалось провести исследования по взаимодействию репрессора с отделенной от остальной части молекулы ДНК участком, содержащим оператор. Этот участок ДНК, имеющий молекулярный вес около $1 \cdot 10^6$, получался при ультразвуковой обработке ДНК фага, несущего в своем геноме лактозный оперон, а именно λФ 80 dlac, с молекулярным весом около $30 \cdot 10^6$. В их исследованиях приводятся предварительные результаты, в которых фрагменты ДНК еще меньшего молекулярного веса (менее чем 100 000), несущих в себе операторный участок, все еще обладали способностью взаимодействовать с репрессором.

б) Репрессор λ фага. В 1957 г. Кайзер и Жакоб [23] доказали наличие участка молекулы ДНК фага λ, ответственного за поддержание лизогенности, а также за иммунность против суперинфекции, а именно C_1-гена профага. Эти и другие наблюдения привели Жакоба и Моно [22] к заключению о том, что C_1-ген приводит к синтезу репрессора (или иммунного вещества, как часто его обозначают), блокирующего литический эффект фага λ и суперинфицирующих фагов.

Именно эту систему использовал в своих экспериментах Пташне [28] для выделения и исследования природы репрессора. Он использовал несколько мутантов λ-фага, обладающего нормальным C_1-геном ,амберным и температуро-чувствительным мутантом по C_1-гену. Метя продукт C_1-гена радиоактивными аминокислотами, Пташне удалось выделить бел-

ковую фракцию из ДЭАЭ-целлюлозных элюатов только из бактерий, инфицированных λ-фагом, несущим неповрежденный C_1-ген. Выделенный из таких бактерий радиоактивный белок подвергался электрофорезу в 7,5% полиакриламидном геле. Было обнаружено, что этот белок мигрирует к аноду при pH 8,7, т. е. является относительно кислым белком. Седиментация этого материала в градиенте сахарозы дает коэффициент, равный 2,7—2,8 S, что соответствует молекулярному весу около 30 000 при условии, если исследуемый белок сферический. При этом Пташне не отрицает, что выделенный им белок, возможно, является лишь субъединицей более сложного олигомерного белка.

В опытах по определению специфичности связывания репрессора λ-фага с ДНК этого же фага Пташне [29] использовал два типа фага: дикий тип и λind⁻ -мутант. Мутант отличался от дикого типа тем, что синтезированный им репрессор не чувствителен к обычным индуцирующим воздействиям (например, к облучению слабыми дозами ультрафиолетовых лучей), т. е. факторы, вызывающие инактивирование репрессора, и следовательно, размножение фага, не инактивируют репрессор λind⁻ -мутанта. Пташне [29] изолировал ind⁻ -репрессор таким же образом, как и в случае с нормальным репрессором, и обнаружил, что ind⁻ -репрессор имеет ту же константу седиментации, что и репрессор нормального типа, но отличается по своей способности элюироваться из колонки с ДЭАЭ-целлюлозой.

Смешивая λind⁻-репрессор с λ-ДНК, Пташне [29] обнаружил осаждение метки вместе с ДНК, т. е. данный репрессор связывался с ДНК. Он доказал, что связывание ind⁻ -репрессора с ДНК специфично, поскольку использование в этих экспериментах мутантов фага λimm^{434}, не реагирующих на репрессор λ-фага, не приводило к подобному осаждению репрессора с ДНК. В тех случаях, когда мутанты λ-фага растут на лизогенных культурах, имеется уменьшение сродства ДНК такого мутанта к репрессору [30]. Причем как генетически, так и в экспериментах по связыванию меченого репрессора с ДНК in vitro было обнаружено, что λ-репрессор связывается, по крайней мере, с двумя различными операторами двух независимо работающих оперонов генома фага λ.

Недавно было показано [21], что λ-репрессор тормозит синтез м-РНК вследствие того, что ингибирует связывание РНК-полимеразы к промоторному участку регулируемых генов фага.

Сходство некоторых свойств бактериального репрессора и гистонов

Таким образом, экспериментально доказано, что репрессорами лак-оперона и λ-фага являются кислые олигомерные белки, состоящие из 4 субъединиц с молекулярным весом около 35—40 000. Эти данные как будто явно указывают на то, что между репрессором бактерий и гистонами нет ничего общего, поскольку последние являются основными белка-

ՀՍՍՀ ԳԱ ... ԳՐԱԴԱՐԱՆ ԱԿԱԴԵՄԻԱ

ми с молекулярным весом около 15—20 000 и к тому же не встречаются в бактериальной клетке (по крайней мере, у E. coli).

Однако ряд фактов говорит о наличии определенного сходства между бактериальными репрессорами и гистонами: 1) зависимость связывания репрессора с оператором и гистонов с ДНК от ионной силы раствора, 2) связываемость репрессора и гистонов с фосфоцеллюлозой, 3) влияние актиномицина Д на взаимодействие репрессора с оператором и гистонов с ДНК и 4) характер взаимодействия репрессора и гистонов с денатурированной ДНК. Разберем каждый из них в отдельности.

1. Зависимость связывания репрессора с оператором и гистонов с ДНК от ионной силы раствора. Связывание репрессора с оператором очень чувствительно к ионной силе раствора. Десятикратное увеличение ионной силы приводит к увеличению на более чем два порядка значения константы диссоциации [34]. Эти данные указывают на то, что в связывании оператора с репрессором участвует электростатическое взаимодействие. Это заключение подтверждается также тем фактом, что лак-репрессор прочно связывается с фосфоцеллюлозой при нейтральном pH и не элюируется, пока концентрация KCl не достигнет 0,3 M [31]. Увеличение ионной силы раствора приводит также к уменьшению способности репрессора λ-фага связываться с ДНК [29], т. е. и в случае репрессора λ-фага взаимодействие репрессора с ДНК носит в какой-то мере электростатический характер.

О влиянии ионой силы раствора на взаимодействие гистона с ДНК хорошо известно [1, 3, 10, 12]. Увеличение ионной силы раствора приводит к постепенному ослаблению связи гистона с ДНК и полной диссоциации нуклеогистонового комплекса. Разница между репрессором и гистонами в этом отношении заключается лишь в величине ионной силы, приводящей к диссоциации комплекса: связь между репрессором и оператором разрушается при более низких ионных силах, чем связь между гистоном и ДНК.

2. Связываемость репрессора и гистонов с фосфоцеллюлозой. Репрессор лак-оперона при нейтральных pH адсорбируется на фосфоцеллюлозе и элюируется увеличивающимися концентрациями KCl [31, 32]. При этом мономер элюируется при более низких концентрациях, чем тетрамер. Следовательно, как мономер, так и в большей степени тетрамер имеют ясно выраженное сродство к отрицательно заряженным фосфатным группам.

Недавно было показано [6], что гистоны также хорошо адсорбируются на фосфатцеллюлозе и прочно связываются с фосфатными группами. В нашей лаборатории Л. С. Хачатрян также обнаружила адсорбируемость различных фракций гистонов тимуса теленка и нефракционированного гистона эритроцитов кур на фосфорилцеллюлозе. В этих экпериментах также установлено, что гистоны прочнее связываются с фосфоцеллюлозой, чем репрессор лак-оперона. Разница в степени связываемости мономера, тетрамера репрессора и различных гистоновых фракций на фосфоцеллюлозе говорит о том, что сродство к фосфатным группам зависит

не только от количества положительных зарядов, но и от конформации самой молекулы.

3. Влияние актиномицина Д на взаимодействие репрессора с оператором и гистонов с ДНК. Актиномицин Д в концентрации более чем 10^{-6} М тормозит связывание репрессора с оператором [34]. Хорошо известно, что актиномицин Д присоединяется к двум цепочкам ДНК и преимущественно к гуанину. Актиномицин Д не действует ни на адсорбируемость, ни на скорость диссоциации уже образованного комплекса репрессор-оператор. Отсюда сделано предположение, что актиномицин Д конкурирует с лак-репрессором за операторный участок [34] он связывается с оператором с константой диссоциации около $2 \cdot 10^{-7}$ М и таким образом препятствует связыванию репрессора с оператором [34].

В наших с Л. С. Хачатрян экспериментах показано (рис. 1), что и в случае гистонов обнаруживается конкуренция между гистонами и актиномицином Д. Если в среде имеется смесь ДНК и гистона, то актиномицин Д почти не связывается с ДНК, и наоборот, если ДНК предварительно смешивается с актиномицином Д и затем только в среду добавляется гистон, то практически весь актиномицин Д остается связанным с ДНК. Таким образом, как репрессор, так и гистон конкурируют с актиномицином Д за определенные участки молекулы ДНК.

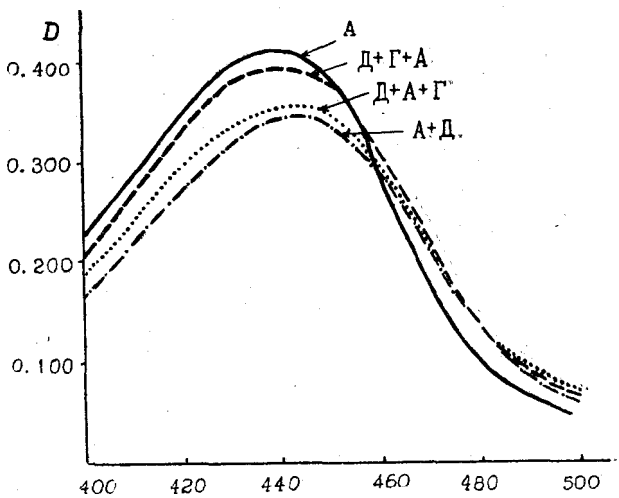

Рис. 1. Конкуренция гистона и актиномицина Д за связывание с ДНК. По оси абсцисс—длина волны в нм, по оси ординат—оптическая плотность. А—актиномицин Д; А+Д—актиномицин Д+ДНК; Д+Г+А—смесь ДНК и гистона, к которой добавлен актиномицин Д; Д+А+Г—смесь ДНК и актиномицина Д, к которой добавлен гистон. Гистон и ДНК выделены из эритроцитов кур.

4. Характер взаимодействия репрессора и гистонов с денатурированной ДНК. По [34], денатурированная ДНК (обработка 0,2N NaOH в течение 10 мин при комнатной температуре, нейтрализация и хранение—при

5°С) связывается с репрессором в 100 раз слабее. Ренатурация ДНК полностью восстанавливает связывающую активность, т. е. репрессор связывается с двуспиральной ДНК гораздо прочнее, чем с односпиральной. Следовательно, последовательность оснований в молекуле ДНК не единственное условие для взаимодействия с репрессором. Аналогичным образом Пташне [30] показал, что репрессор λ-фага не связывается с денатурированной ДНК.

Нами, совместно с Л. С. Хачатрян, показано (рис. 2), что тепловая денатурация ДНК приводит к уменьшению связываемости с гистонами. При этом обнаружено, что разные ДНК (тимусная, эритроцитов кур, мышиной селезенки, фага Т4) в разной степени теряют способность связываться с гистонами, выделенными из разных источников. Аналогичные результаты были получены также другими авторами [13, 17]. Во всех случаях денатурация ДНК приводила либо к уменьшению, либо к потере способности связываться с гистонами.

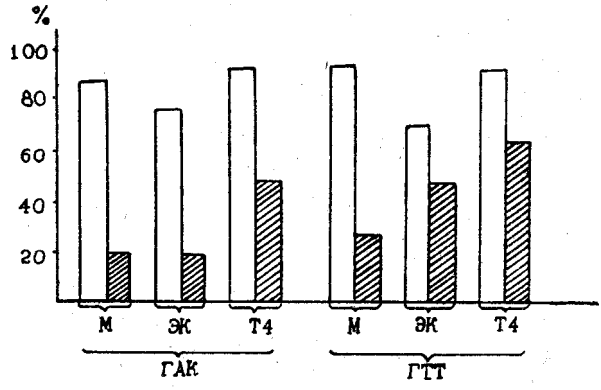

Рис. 2. Связывание гистона с нативной и денатурированной ДНК. По оси ординат—процент связывания. М—ДНК селезенки мыши, ЭК—ДНК эритроцитов кур, Т4—ДНК фага Т4, ГАК—гистон асцитной карциномы Эрлиха, ГТТ—гистона тимуса теленка. Белые столбики—нативная ДНК, заполненные столбики—денатурированная ДНК. Соотношение гистон/ДНК—1:1

Гипотеза о генетическом родстве бактериального репрессора и гистонов

Обсуждая полученные данные, Риггс и др. [34] заключили, что связывание репрессора с оператором, по-видимому, должно быть результатом по крайней мере двух процессов: образования специфических связей с несколькими основаниями нуклеиновых кислот и неспецифического электростатического взаимодействия. Большая чувствительность к ионной силе указывает на то, что электростатическое взаимодействие может внести значительный вклад в энергию связывания. С другой стороны, резкое уменьшение специфичности связывания репрессора при замене одного или нескольких оснований в мутантных ДНК говорит о том, что в специ-

фичности реакции электростатическое взаимодействие играет небольшую роль.

Исходя из всего сказанного, мы приходим к предположению, что бактериальный репрессор, состоящий из 4 субъединиц, имеет в каждой субъединице участок, взаимодействующий с индуктором; два идентичных участка, взаимодействующих с другими субъединицами; участок, взаимодействующий с фосфатными группами ДНК и обеспечивающий прочность связи.

Ни один из этих участков не обусловливает каждый в отдельности специфичности взаимодействия с оператором. Она обеспечивается только сложной структурой, образованной из 4 субъединиц репрессора. Эта структура имеет определенную конформацию, изменение которой (имеющей место, например, при взаимодействии с индуктором) приводит к отделению репрессора от ДНК (рис. 3).

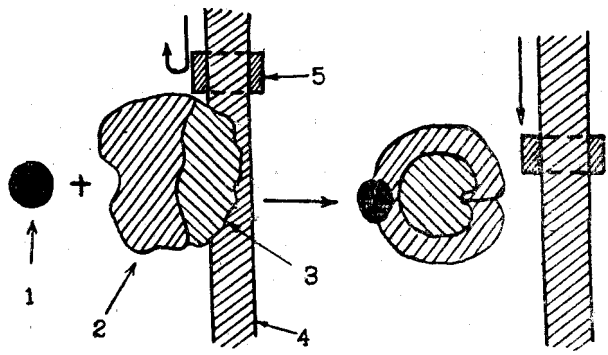

Рис. 3. Изменение конформации субъединицы репрессора при взаимодействии с индуктором. 1—индуктор, 2—«кислый» участок субъединицы, 3—«основный» участок субъедницы, 4—ДНК, 5—РНК-полимераза. При взаимодействии индуктора с репрессором, конформация последнего меняется таким образом, что «основной» участок «маскируется», вследствие чего репрессор отделяется от ДНК, и РНК-полимераза производит синтез РНК.

Для рассматриваемого нами вопроса, особый интерес представляет третий участок субъединицы, т. е. участок, взаимодействующий с фосфатными группами ДНК. С нашей точки зрения, отмеченное выше сходство некоторых свойств бактериального репрессора и гистонов не является случайным совпадением, а отражает определенную закономерность, заключающуюся в том, что в каждой субъединице репрессора имеется положительно заряженный участок, который практически мало чем отличается от гистонов и служит для обеспечения прочности связи репрессора с ДНК.

Постулирование наличия гистоноподобного участка в субъединице репрессора приводит к очень важным выводам и предположениям, а именно: 1) между гистонами высших организмов и бактериальными репрессорами есть генетическая связь (еще одно доказательство регуляторной функции гистонов), 2) в регуляции генетической активности у высших организмов кроме гистонов должны принимать участие также

негистоновые белки хроматина, 3) специфичность взаимодействия регуляторов с ДНК у высших организмов обеспечивается не гистонами, а негистоновыми белками или комплексом гистон-негистоновый белок, 4) для обеспечения усложняющихся систем регуляторными механизмами в процессе эволюции от одноклеточных организмов до высших многоклеточных существенным оказалось «отделение» «основного» участка репрессора от «кислого», что, по-видимому, способствовало увеличению числа возможных комбинаций между подобными участками разных репрессоров.

Число подобных предположений и заключений можно было бы увеличить, однако в настоящее время в этом нет никакой необходимости. Мы прекрасно отдаем себе отчет в том, что выдвигаемая гипотеза о генетическом родстве гистонов и репрессоров имеет весьма шаткую основу. Однако она, с нашей точки зрения, настолько увлекательна и в свою очередь выдвигает столько новых и интересных вопросов для исследователей, что мы тем не менее, нашли целесообразным ее высказать, с надеждой, что обсуждение этой гипотезы, эксперименты, поставленные для подтверждения или опровержения ее, приблизят нас к выяснению роли гистонов в клетке и к пониманию механизмов регуляции генетической активности.

Институт экспериментальной биологии
АН АрмССР

Поступило 3.XI 1970 г.

Գ. Հ. ՓԱՆՈՍՅԱՆ

ԲԱԿՏԵՐԻԱԼ ՌԵՊՐԵՍՈՐԻ ԲՆՈՒՅԹԸ ԵՎ ՀԻՍՏՈՆՆԵՐԻ ՈՒ ՌԵՊՐԵՍՈՐՆԵՐԻ ԾԱԳՈՒՄՆԱԲԱՆԱԿԱՆ ԿԱՊԻ ՀՆԱՐԱՎՈՐՈՒԹՅՈՒՆԸ

Ամփոփում

Աշխատանքում բերվում են նորագույն տվյալներ երկու ռեպրեսորների— E. coli-ի լակտոզային օպերոնի և λ-ֆագի բնույթի մասին։ Այս երկու ռեպրեսորների որոշ հատկությունների (լուծույթի իոնական ուժից կախված ԴՆԹ-ի հետ կոմպլեքսների առաջացումը, ֆոսֆոցելյուլոզայի վրա ադսորբվելու ունակությունը, դենատուրացված ԴՆԹ-ի հետ փոխազդեցությունը, վերաբերմունքը դեպի ակտինոմիցին Դ-ն) և հիստոնների նույն հատկությունների համեմատական վերլուծության հիման վրա առաջ է քաշվում վարկած հիստոնների և բակտերիալ ռեպրեսորների ծագումնաբանական կապի վերաբերյալ։ Ընդ որում ենթադրված է, որ բակտերիալ ռեպրեսորների մոլեկուլների ենթամիավորումներում պետք է գոյություն ունենա մի հատված, որը ունի հիստոններին նույնանման հատկություններ։

ЛИТЕРАТУРА

1. *Батлер Дж.* Гистоны и перенос генетической информации. М., 1968, стр. 11.
2. *Бонзер Д., Хуанг П.* Гистоны и перенос генетической информации. М., 1968, стр. 28.

3. *Буш Х.* Гистоны и другие ядерные белки. ИЛ., 1967.
4. *Ганелина Л. Ш.* Цитология, 7, 155, 1965.
5. *Гудвин Б.* Гистоны и перенос генетической информации. М., стр. 88, 1968.
6. *Ермолаева Н. В., Водолазская Н. А.* Биохимия, 35, 641, 1970.
7. *Олфри В., Пого Б., Пого А., Клейнсмит Дж., Мирский А.* Гистоны и перенос генетической информации. М., стр. 59, 1968.
8. *Паносян Г. А.* Биол. журнал Армении, 20, 8, 1967.
9. *Паносян Г. А., Арутюнян А. А.* Вопросы молекулярно-клеточной биологии и иммунологии. АН АрмССР, Ереван, стр. 188, 1970.
10. *Паносян Г. А., Хачатрян Л. С.* Вопросы молекулярно-клеточной биологии и иммунологии. АН АрмССР, Ереван, стр. 184, 1970.
11. *Рапопорт Э. А.* Успехи современной биологии, 59, 57, 1965.
12. *Хачатрян Л. С., Паносян Г. А.* Вопросы молекулярно-клеточной биологии и иммунологии, АН АрмССР, Ереван, стр. 179, 1970.
13. *Akinrimisi E. O., Bonner J., Ts'o P. O. P.* J. Mol. Biol. 11, 128, 1965.
14. *Beckwith J. R.* Science, 156, 597, 1967.
15. *Bourgeois S. Riggs A. D.* Bioch. Bioph. Res. Comm., 38, 413, 1970,
16. *Burstein C., Cohn M., Ripes A.* J. Monod, Biochem. Bioph. Acta 95, 634, 1965.
17. *Cvetkovic M. D., Savic R. M.* Biochem. J. 112, 801, 1969.
18. *Gilbert W., Müller-Hill B.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 56, 1891, 1966.
19. *Gilbert W., Müller-Hill B.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 58, 2415, 1967.
20. *Gilmour R. S., Paul J.* J. Mol. Biol 40, 137, 1969.
21. *Hayward W. S., Green M. H.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 64, 962, 1969.
22. *Jacob F., Monod J.* J. Mol. Biol. 3, 318, 1961.
23. *Kaiser A. D., Jacob F.* Virology, 4, 509, 1957,
24. *Miller J. H., Ippen K., Scaife J. G., Beckwith J. R.* J. Mol. Biol. 38, 348, 1970.
25. *Müller-Hill B., Crapo L., Gilbert W.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 59, 1959, 1968.
26. *Pardee A. B., Jacob F., Monod J.* J. Mol. Biol. 1, 165, 1959.
27. *Paul J., Gilmour R. S.* J. Mol. Biol. 34, 305, 1968.
28. *Ptashne M.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 57, 306, 1967.
29. *Ptashne M.* Nature, 214, 232, 1967.
30. *Ptashne M., Hopkins N.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 60, 1282, 1968.
31. *Riggs A. D., Bourgeois S.* J. Mol. Biol. 34, 361, 1968.
32. *Riggs A. D., Bourgeois S.* J. Mol. Biol. 34, 365, 1968.
33. *Riggs A. D., Bourgeois S.* Biophys. J. 9, A—84, 1969.
34. *Riggs A. D., Suzuki H., Bourgeois S.* J. Mol. Biol. 48, 67, 1970.
35. *Zubey G., Lederman M., DeVries J. K.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 58, 1669, 1967.
36. *Zubey G., Watson M. R.* J. Biophys. Biochem. Cytol. 5, 51, 1959.